

氏 名	SONYA AFRIN		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	学 術		
学位授与番号	博甲第	6 5 0 8	号
学位授与の日付	2 0 2 1 年 9 月 2 4 日		
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Stomatal response to isothiocyanates in <i>Arabidopsis thaliana</i> (イソチオシアネートに対するシロイヌナズナの気孔応答)		
論文審査委員	教授 清田 洋正	教授 村田 芳行	教授 中村 宜督 教授 木村 吉伸
学位論文内容の要旨			
<p>Introduction: A large amount of Isothiocyanates (ITCs) is produced rapidly when the leaves are damaged by insects or herbivores. Isothiocyanates exhibit various effects on the physiological processes of plants. Several recent reports confirmed that AITC induced stomatal closure and that is accompanied by reactive oxygen species (ROS) production, cytosolic alkalization and cytosolic Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$), and GSH depletion. However, there is no report on details about stomatal closure mechanism induced by other ITCs besides AITC. Moreover, the involvement of reactive carbonyl species (RCS) in ITC signaling has not been studied yet.</p> <p>Methods: Stomatal apertures in the epidermal tissues were observed under a microscope. Production of ROS and changes of cytosolic pH were measured using 2,7-dichlorodihydrofluorescein diacetate ($\text{H}_2\text{DCF-DA}$) and (3'-<i>O</i>-acetyl-2',7'-bis(carboxyethyl)-4 or 5-carboxyfluorescein, diacetoxymethyl ester (BCECF-AM), respectively. $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ in guard cells was analyzed using Yellow Cameleon 3.6 (YC 3.6) technique. The GSH in guard cells was fluorometrically quantitated using monochlorobimane (MCB). Production of RCS was measured using AcroleinRED.</p> <p>Results and discussion: AITC, BITC, PEITC, and SFN significantly induced stomatal closure, where PEITC and BITC were most effective. The selected ITCs also induced ROS accumulation, cytosolic alkalization, and GSH depletion in guard cells. Moreover, all ITCs increased the frequency of $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ spike (transient elevation) while the PEITC and BITC showed the highest frequency. There was a strong positive correlation between the number of $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ spike per guard cell and the decrease in stomatal aperture. The cytosolic alkalization and GSH contents have a positive correlation with the decrease in stomatal aperture but the ROS production did not have a significant correlation with the decrease in stomatal apertures. These results indicate that the molecules functionalized with an ITC group induce stomatal closure that is accompanied by GSH depletion, cytosolic alkalization, $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ spike, and ROS production and that the GSH contents, cytosolic alkalization, and the number of $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ spike rather than ROS production are highly correlated with the decrease in stomatal aperture. I also found that ITCs significantly increased reactive carbonyl species (RCS) production in the <i>A. thaliana</i> guard cells and treatment with RCS scavenger reduced PEITC-induced cytosolic alkalization, GSH depletion, and stomatal closure. These results suggests RCS is involved in ITC signaling in guard cells and that ITC-induced RCS can affect the cytosolic alkalization and GSH depletion in <i>A. thaliana</i> guard cells.</p>			

論文審査結果の要旨

陸上植物の表皮に存在する気孔は、水の蒸散や二酸化炭素の取込みを媒介する重要な小孔である。特に、種々のストレスによって誘導される気孔閉口は、孔辺細胞内の信号伝達経路によって厳密に制御されている。植物の本論文は、気孔閉口のための孔辺細胞内の信号伝達経路の信号伝達因子の相互作用を明らかにしようとしたものである。

4つイソチオシアネートが誘導する気孔閉口に着目し、活性酸素種産生、細胞質アルカリ化、グルタチオンの減少、細胞質カルシウム動員パターンについて調べ、そして、これら信号伝達因子の相関関係を調べた。活性カルボニル種生成についても精査した。

細胞質カルシウム濃度上昇の回数と気孔閉口には高い正の相関があった。細胞質アルカリ化ならびにグルタチオン量は、気孔閉口と有意な相関があったが、活性酸素種産生は、気孔閉口と有意な相関はなかった。

また、イソチオシアネート誘導気孔閉口も、活性カルボニル種生成を伴っていることを明らかにした。

本研究内容は、学術的な価値のみならず、気孔運動に着目した植物生産制御のための技術の基礎となるものである。従って、本審査委員会は本論文が博士（学術）の学位論文に値すると判断した。